

1/7/1 Links

JAPIO

(c) 2007 JPO & JAPIO. All rights reserved.

02049896 NOVEL NUCLEOTIDE DERIVATIVE AND ITS PRODUCTION

**Pub. No.:** 61-263996 [JP 61263996 A ]

**Published:** November 21, 1986 (19861121)

**Inventor:** CHIYAN IRU HON

**Applicant:** HONEI SEIYAKU KK [000000] (A Non-Japanese Company or Corporation),  
KR (Korea) Republic of

**Application No.:** 60-275853 [JP 85275853]

**Filed:** December 07, 1985 (19851207)

**Priority:** 8407754 [KR 847754], KR (Korea) Republic of, December 07, 1984  
(19841207)

8506039 [KR 856039], KR (Korea) Republic of, August 22, 1985 (19850822)

? b wpi

[File 331] **Derwent WPI First View UD=200764** (c) 2007 The Thomson Corp.  
. All rights reserved.

\*File 331: For patent family information, search also File 351, 352, or 350.

[File 351] **Derwent WPI 1963-2007/UD=200765**

(c) 2007 The Thomson Corporation. All rights reserved.

? expand pn=jP 63038360

Ref Items Index-term

E1 2 PN=JP 63038358

E2 2 PN=JP 63038359

E3 2 PN=JP 63038360

E4 2 PN=JP 63038361

E5 2 PN=JP 63038362

E6 2 PN=JP 63038363

E7 2 PN=JP 63038364

E8 2 PN=JP 63038365

Enter PAGE for more

? s e3

S1 2 PN='JP 63038360'

? t s1/ti/all

1/TI/1 (Item 1 from file: 351) Links

Derwent WPI

(c) 2007 The Thomson Corporation. All rights reserved.

**Incoming indicator tone controller for electronic exchanger - distinguishes groups of originators and alters incoming indicator tone according to groups**

**NoAbstract Dwg 0/2**

**Original Titles:**

SINGING CONTROLLER FOR ELECTRONIC EXCHANGE OR THE LIKE

1/TI/2 (Item 2 from file: 351) Links

Derwent WPI

(c) 2007 The Thomson Corporation. All rights reserved.

**New glycerol nucleoside diphosphate ester(s) - useful as anticancer and antiviral agents**

**Original Titles:**

Neue Nucleosidderivate und Verfahren zu ihrer Herstellung

Verfahren zur Herstellung von Nucleosidkonjugaten

? t sl/7/2

1/7/2 (Item 1 from file: 351) Links

Derwent WPI

(c) 2007 The Thomson Corporation. All rights reserved.

0003711920

WPI Acc no: 1986-156905/198625

XRAM Acc no: C1986-067022

**New glycerol nucleoside diphosphate ester(s) - useful as anticancer and antiviral agents**

Patent Assignee: BORYUNG PHARM (BORY-N); BORYUNG PHARM CO LT (BORY-N); HOTEI SEIYAKU KK (HOTE-N)

Inventor: HONG C

Patent Family ( 17 patents, 6 countries )

Patent Number	Kind	Date	Application Number	Kind	Date	Update	Type
DE 3543346	A	19860612	DE 3543346	A	19851207	198625	B
GB 2168350	A	19860618	GB 198530114	A	19851206	198625	E
GB 2168353	A	19860618	GB 198530115	A	19851206	198625	E
FR 2574411	A	19860613	FR 198518129	A	19851206	198630	E
FR 2574412	A	19860613	FR 198518130	A	19851206	198630	E
JP 61197591	A	19860901	JP 1985275852	A	19851207	198641	E
JP 61263996	A	19861121	JP 1985275853	A	19851207	198701	E
ES 198701192	A	19870216	ES 1985549558	A	19851204	198714	E
ES 198706163	A	19870816	ES 1985549587	A	19851205	198736	E
GB 2168350	B	19880302				198809	E
GB 2168353	B	19880622				198825	E
KR 198800093	B	19880223	KR 19847754	A	19841207	198829	E
			KR 19856039	A	19850822		
KR 198800094	B	19880223	KR 19847754	A	19841207	198829	E
			KR 19856039	A	19850822		
JP 1988038360	B	19880729	JP 1985275852	A	19851227	198834	E
ES 198802363	A	19880801	ES 1987557428	A	19870227	198836	E
JP 1989029800	B	19890614				198927	E
DE 3543346	C2	19931111	DE 3543346	A	19851207	199345	E

Priority Applications (no., kind, date): KR 19847754 A 19841207; KR 19856039 A 19850822

**Patent Details**

Patent Number	Kind	Lan	Pgs	Draw	Filing Notes
DE 3543346	A	DE	24	0	
DE 3543346	C2	DE	4	0	

**Alerting Abstract DE A**

Nucleoside diphosphate esters of formula (I) and their salts are new:  
B=adenine, cytosine, 5-fluorouracil, 5-azacytosine, 6-mercaptopurine or 7-deazaadenine; A and D=H or OH; W=satd. or unsatd. 8-20C alkyl or 2- or 3-alkaoxyalkyl; W'=satd. or unsatd. 7-19C alkyl.

USE/ADVANTAGE - (I) are useful as anticancer and antiviral agents. They penetrate into cancer cells in liposome form and are cleaved in the cells to release an active nucleotide or nucleoside. They have higher activity (e.g. against L1210 leukaemia) than the parent nucleosides and nucleoside/

phospholipid mixts.

**Title Terms** /Index Terms/Additional Words: NEW; GLYCEROL; NUCLEOSIDE; DI; PHOSPHATE; ESTER; USEFUL; ANTICANCER; ANTIVIRAL; AGENT

**Class Codes**

International Patent Classification

IPC	Class Level	Scope	Position	Status	Version Date
C07H-019/10			Main		"Version 7"
A61K-031/70; A61K-045/05; C07H-011/04; C07H-019/04; C07H-019/20; C07H-019/23			Secondary		"Version 7"

File Segment: CPI

DWPI Class: B03

Manual Codes (CPI/A-N): B04-B03B; B12-A06; B12-G07

Original Publication Data by Authority

Japan

Publication No. JP 61197591 A (Update 198641 E)

Publication Date: 19860901

Language: JA

Application: JP 1985275852 A 19851207 (Local application)

Priority: KR 19847754 A 19841207

KR 19856039 A 19850822

Publication No. JP 61263996 A (Update 198701 E)

Publication Date: 19861121

Language: JA

Application: JP 1985275853 A 19851207 (Local application)

Priority: KR 19847754 A 19841207

KR 19856039 A 19850822

Publication No. JP 1988038360 B (Update 198834 E)

Publication Date: 19880729

Language: JA

Application: JP 1985275852 A 19851227 (Local application)

Priority: KR 19847754 A 19841207

KR 19856039 A 19850822

Publication No. JP 1989029800 B (Update 198927 E)

Publication Date: 19890614

Language: JA

Priority: KR 19847754 A 19841207

KR 19856039 A 19850822

⑫ 公開特許公報 (A)

昭61-263996

⑤Int. Cl. <sup>4</sup>	識別記号	庁内整理番号	④3公開	昭和61年(1986)11月21日
C 07 H 19/10		6742-4C		
19/14		6742-4C		
19/20		6742-4C		
// A 61 K 31/70	ADU	7252-4C		
	ADY		審査請求	未請求
			発明の数	3 (全14頁)

⑤4発明の名称 新規ヌクレオシド誘導体およびその製造法

②特 願 昭60-275853

②②出 願 昭60(1985)12月7日

優先權主張 ③2 1984年12月7日 ③3 韓國(KR) ③1 84-7754

③<sup>2</sup>1985年8月22日③<sup>3</sup>韩国(KR)③<sup>1</sup>85-6039

⑫発 明 者 チヤン・イル・ホン アメリカ合衆国ニューヨーク州14221, ウイリアムズビル, フォーレスト・ヒル・ロード 52

⑦出 願 人 保寧製薬株式会社 大韓民国ソウル特別市鐘路区苑南洞66-21

⑦④代 理 人 弁 理 士 湯 淺 恭 三 外 4 名

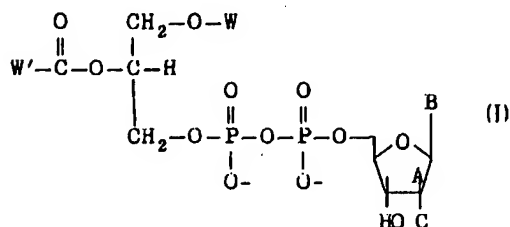
明 細 書

## 1.〔発明の名称〕

新規ヌクレオシド誘導体およびその製造法

## 2〔特許請求の範囲〕

(1) 式



(式中、Bはアデニン、シトシン、5-フルオロ  
ウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプ  
リンまたは7-デアザアデニンであり、

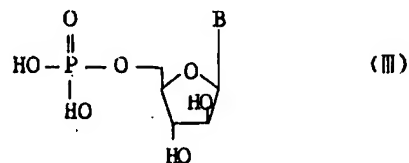
AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロキシ基であり、

Wは8-20個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基または2あるいは3-アルコキシアルキル基であり、

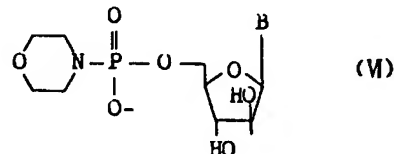
W' は 7-19 個の炭素原子を有する飽和また

は不飽和アルキル基である)を有するヌクレオシド抱合体および製薬上受容可能な毒性のない塩。

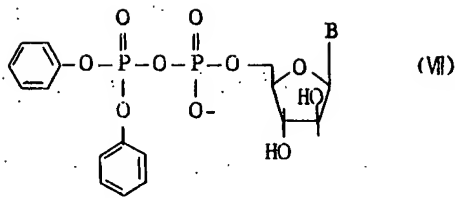
(2) 式



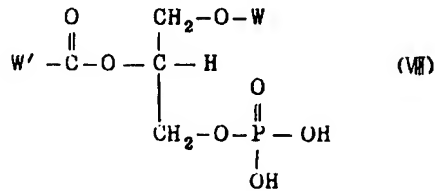
(式中、Bはアデニン、シトシン、5-フルオロウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプリンまたは7-デアザアデニンである)を有するヌクレオチドを縮合して、式



(式中、Bは上記定義の通りである)を有するモノホリデートまたは式

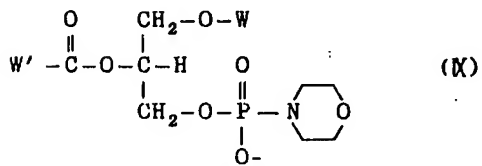


(式中、Bは上記定義の通りである)を有する  
P<sup>1</sup>-ヌクレオシド-5'-P<sup>2</sup>-ジフェニルピロホス  
フェートとし、次いで式

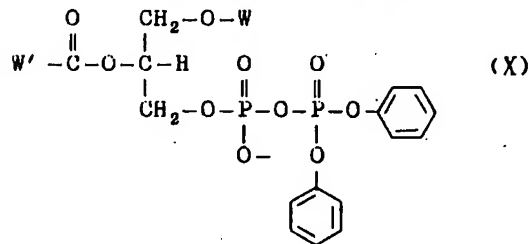


(式中、Wは8から20個の炭素原子を有する飽  
和または不飽和アルキル基または2或は3-アル  
コキシアルキル基であり、W'は7から19個の  
炭素原子を有する飽和または不飽和アルキルであ  
る)を有する1-O-アルキル-2-O-アシル  
グリセロ-3-ホスフェートと反応させて、式

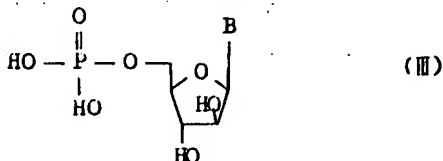
(3)



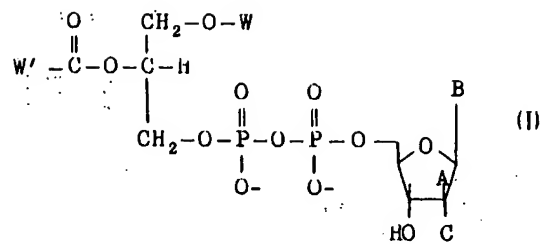
(式中、WおよびW'は上記定義の通りである)  
を有する磷脂質モルホリデートまたは式



(式中、WおよびW'は上記定義の通りである)  
を有するP<sup>1</sup>-グリセロ-5'-P<sup>2</sup>-ジフェニルピロ  
ホスフェートとして、次いでこれを式

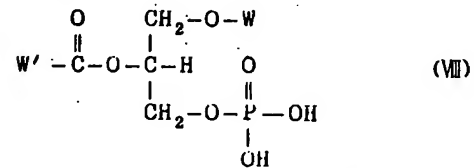


(5)



(式中、AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロ  
キシ基である)を有するヌクレオシド抱合体また  
はその塩を得ることを特徴とする、式(I)を有する  
ヌクレオシド抱合体の製造法

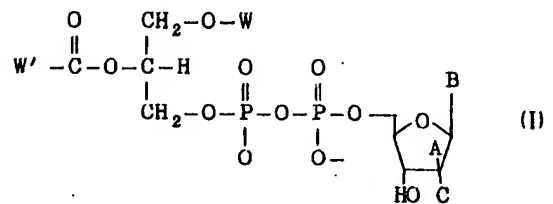
(3) 式



(式中、Wは8から20個の炭素原子を有する飽  
和または不飽和アルキル基または2或は3-アル  
コキシアルキル基であり、W'は7から19個の  
炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基で  
ある)を有する磷脂質を縮合して、式

(4)

(式中、Bはアデニン、シトシン、5-フルオロ  
ウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプ  
リンまたは7-デアザアデニンである)を有する  
ヌクレオシドと反応させて、式



(式中、AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロ  
キシ基である)を有するヌクレオシド抱合体また  
はその塩を得ることを特徴とする、式(II)を有する  
ヌクレオシド抱合体の製造法。

(4) 目的化合物が1-β-D-アラビノフラノ  
シルシトシン-5'-ジホスフェート-1-O-オ  
クタデシル-2-O-パルミトイル-sn-グリ  
セロールである特許請求の範囲第1項記載の化合  
物。

(5) 目的化合物が1-β-D-アラビノフラノ  
シルシトシン-5'-ジホスフェート-rac-1-

(6)

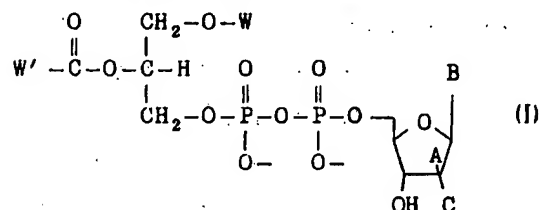
0-オクタデシル-2-0-パルミトイルグリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

(6) 目的化合物が1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジホスフェート-rac-1-0-ヘキサデシル-2-0-パルミトイルグリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

(7) 目的化合物が9-β-D-アラビノフラノシルアデニン-5'-ジホスフェート-rac-1-0-ヘキサデシル-2-0-パルミトイルグリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

### 3. [発明の詳細な説明]

本発明は新規ヌクレオシド誘導体および式



(式中、Bはアデニン、シトシン、5-フルオウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプリンまたは7-デアザアデニンであり、

(7)

最初に合成された。

本発明者等 [ジャーナル オブ メディカル ケミストリー (J. of Medical Chemistry) 25, 1322 (1982), バイオケミカル アンド バイオフィジカル リサーチ コミュニケーション (Biochemical and Biophysical Research Communication) 85, 715 (1978)] および他の研究者等 [バイオヒミカ エ バイオフィジカ アクタ (Biochimica et Biophysica Acta) 69, 604 (1980)] は、類似化合物の1,2-ジアシルグリセロヌクレオシド抱合体を開示した。この先行技術では、ヌクレオシド-5'-モノホスホモルホリデートを1,2-ジアシルグリセロール-3-ホスフェートと反応させて、この類似化合物を得た。しかし、本発明の磷脂質部分は1-0-アルキル-2-0-アシルグリセロール-3-ホスフェートから成っており、ヌクレオシドとの新規抱合体は先行技術には報告されておらず、本発明者によつて初めて製造された。

本発明を以下に詳細に説明する。

(9)

AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロキシ基であり、

Wは8-20個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基または2あるいは3-アルコキシアルキル基であり、

W'は7-19個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基である)を有する抗癌剤および抗ウイルス剤として有用な新規ヌクレオシド誘導体およびそれらの塩の製造法に関する。

式(I)では、磷脂質は光学異性体のL・DおよびDL型を包含し、代表的なヌクレオシドには、9-β-D-アラビノフラノシルアデニン(以下においては、ara-Aと表す)、1-β-D-アラビノフラノシルシトシン(以下においては、ara-Cと表す)、5-フルオロ-2'-デオキシウリジンまたはその他の抗癌剤および抗ウイルス剤として使用することができるヌクレオシドがある。

本発明は、1-0-アルキル磷脂質とヌクレオシドとの抱合体の新規製造法に関する。

式(I)を有する新規化合物は、本発明者によつて

(8)

本発明の目的は、特異な分子構造と物理科学的特性を有する新規抗癌および抗ウイルス剤を提供することである。

本発明のもう一つの目的は、特異な分子構造と物理科学的特性を有する前記の新規抗癌および抗ウイルス剤の新規且つ高収率での製造法を提供することである。

更にもう一つの本発明の目的は、抗癌および抗ウイルス剤としての新規クラスの磷脂質抱合体の製造法を提供することである。

本発明のもう一つの目的は、抗癌および抗ウイルス剤の腫瘍細胞への新規伝達系として作用し且つリソゾモトロピズム(lysosomotropism)または関連した膜現象のプロセスにより癌細胞に浸透する脂質ベヒクル(リソソーム)を形成する新規クラスのリボヌクレオシド化合物を提供することである。

本発明の抗癌剤は、腫瘍細胞に浸透した後、細胞内で磷脂質-酵素特異反応または非特異的機構によつて抗癌および抗ウイルスヌクレオシドまた

(10)

はヌクレオチドに分離し、細胞が磷脂質の特異的な結合部位を有する場合には、それが特異的標的化合物になる。更に、有効な活性を得るのにホスホリル化を必要とするヌクレオシドについて、抱合体はかかる機能を供し、ヌクレオシドキナーゼを欠くレジスティング細胞 (resisting cells) に対して優れた治療効果を生じる。更にこの 1-O-アルキルホスホリド自身は製薬効果、特に抗癌および免疫転形作用 (immunomodulating activity) を有し、ヌクレオシドと 1-O-アルキルホスホリドとの結合は好都合な付加的または相乗的效果を生じる。換言すれば、1-O-アルキルホスホリド、1-O-アルキル-2-リソホスホリドおよびその誘導体のうち、1-O-アルキル-2-O-メチルホスファチジル-コリンまたは-エタノールアミンは、各種動物の癌に対する抑制および予防作用および免疫転形作用を有することが開示される [アンティキヤンサー リサーチ (Anticancer Research) 1, 135 および 345 (1981); セミナー イン イミューノ

01

ド (Ⅶ) をそのモルホリデート (Ⅷ) または  $P^1$ -グリセロ-5'- $P^2$ -ジフェニルピロホスフェート (Ⅹ) とした後、それをヌクレオチド (Ⅲ) と反応させて抱合体 (Ic) から (Id) を得る (反応工程図、方法 C および方法 D)。

本発明の化合物およびそれらの塩は、通常の製薬上受容可能な有機および無機担体物質と混合して用いることができる。本発明の化合物は、エマルジョン、懸濁液、アンプル、粉末、顆粒、カプセル、錠剤などの通常の受容可能な携帯の一つであつてもよい。また、それは通常の充填剤、防腐剤、安定剤、分散剤、滅菌剤、緩衝剤および着色剤を含んでいてもよい。

03

パソロジー (Seminar in Immunopathology) 第3巻、187-203 (1979)]。抱合体のままである限り、ara-C または ara-A のアミノ基は、シチジンデアミナーゼまたはアデノシンデアミナーゼによる脱アミノが防止される。抱合体それ自身は親油性であるので、それは一種の持続性リリースプロドラッグ (sustained release prodrug) として作用し、標的細胞に到達してこの細胞中で抱合体をホスホリドとヌクレオシドとに加水分解する。これは二種の医薬品を投与するのと同じ結果になるので、抗癌剤治療指数を増加する両者の製薬効果を期待することができる。

式(I)の化合物の製造法を、下記の反応工程図に模式的に示す。ヌクレオチド (Ⅲ) を縮合して、モルホリデート (Ⅷ) または  $P^1$ -ヌクレオシド-5'- $P^2$ -ジフェニルピロホスフェート (Ⅶ) とした後、1-O-アルキル-2-O-アシルグリセロホスフェート (Ⅷ) と反応させることにより抱合体 (Ia) から (Id) を得る (反応工程図、方法 A または方法 B)。他の経路では、ホスホリド

02





下記の実施例は単に説明のためのものであり、本発明を限定することを意図するものではない。

### 実施例 1

1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジホスフェート-1-O-オクタデシル-2-O-パルミトイル-β-D-グリセロールまたは1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジホスフェート-β-パルミトイル-L-パチルアルコール (Ia, ara-CDP-L-PBA)

1.7 g (2.6 ミリモル) の 1-O-オクタデシル-2-O-パルミトイル-β-D-グリセロール-3-ホスフェート (VIII, n=17, m=14, L-異性体) をピリジンと共に共蒸発させて乾固した後、1.8 g (2.6 ミリモル) の ara-CMP モルホリデート 4-モルホリン-N,N'-ジシクロヘキシルカルボキサミジニウム塩 (VI, B=シトシン) と混合した。混合物を 150 ml の乾燥ピリジンに溶解して、無水条件で室温で 5 日間攪拌した。次いで、ピリジンを減圧で除去し、微量のピリジンをトルエンの共蒸発によつて除去した。残渣を

09

- 融点: 199-202℃
- $[\alpha]_D^{25} = +3.35^\circ$  (c=0.23, クロロホルム-メタノール-水 2:3:1)
- NMR (90 MHz): 溶媒 (CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD-D<sub>2</sub>O, 2:3:1): δ ppm 0.95 (6, t, 2CH<sub>3</sub>), 1.14-1.87 (58, m, 29CH<sub>2</sub>), 2.29 (2, t, CH<sub>2</sub>-C=O), 3.27-4.42 (11, m, H2', H3', H4', H5', CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub> 及び CH<sub>2</sub>-O-), 5.15 (1, m, グリセロール CH), 5.94 (1, d, J=7 Hz, シトシン H5), 6.18 (1, d, J=5 Hz, H1), 7.80 (1, d, J=7 Hz, シトシン H6)

4) 元素分析: C<sub>46</sub>H<sub>87</sub>N<sub>3</sub>O<sub>14</sub>P<sub>2</sub>·1.5 (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO·H<sub>2</sub>O

	C	H	N	P
計算値	56.51	9.20	3.92	5.77
実測値	56.81	9.27	3.69	5.87

### 実施例 2

1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジ

07

15 ml の乾燥酢酸と 150 ml のクロロホルム-CH<sub>3</sub>OH-水 (2:3:1) に溶解して、室温で 1 時間攪拌し、この溶液に 250 ml のクロロホルムを加えた。有機溶媒層を分離して、減圧下で濃縮し、微量の残存している酢酸を 3 段階で 10 ml のトルエンと共蒸発することによつて除去した。残渣を 100 ml の CMW 溶媒に溶解し、DE-52 (アセテート) セルロースカラム (2.5 × 50 cm, ジャケット付き, 5℃) に吸着させた後、カラムを 0-0.15 M NH<sub>4</sub>OAc 線形勾配溶媒 CMW (各 1500 ml) で溶出した。900-1500 ml の溶出液を集めて、減圧下で 30℃ 以下の温度で蒸発させ、白色結晶を生成させた。この白色結晶性粉末を水で洗浄し、濾過した後、ナトリウム塩に転換するため CMW に溶解して、次いでアンバーライト (Amberlite) CG-5.0 (Na+) カラム (2.5 × 15 cm) にかけて、溶出液を集めて減圧下で蒸発した。残渣をクロロホルムおよびアセトンから結晶化させると、820 mg (3.12%) の白色の目的化合物を得た。

06

ホスフェート-rac-1-O-オクタデシル-2-O-パルミトイルグリセロール (Ib, ara-CDP-DL-PBA)

### (1) 方法 A (反応工程図、方法 A)

表記化合物は、rac-1-O-オクタデシル-2-O-パルミトイルグリセロール-3-ホスフェート (VIII, n=17, m=14, DL-混合物) を ara-CMP-モルホリデート (VI, B=シトシン) と縮合することによつて調製し、次いで上述のように分離して 3.5% の収率で目的化合物を得た。クロマトグラフィーでの移動度および NMR データは、理論値と一致した。

### (2) 方法 B (反応工程図、方法 B)

表記化合物は、下記の方法によつて調製した。323 mg (1 ミリモル) の ara-CMP (III, B=シトシン) と 371 mg (1 ミリモル) のトリ-n-オクタールアミンを 7 ml の熱メタノールに溶解し、次いで溶媒を減圧下で蒸発させ、残渣を再度 N, N'-ジメチルホルムアミド (DMF) に溶解し、減圧下で蒸発させ、残渣中に残っている痕跡量の水

08

を除去した。こうして得た乾燥 *ara*-CMP-トリ-O-オクチルアンモニウム塩を 10 ml のジオキサンおよび 5 ml の DMF に溶解し、この溶液に 0.3 ml のジフェニルホスホクロリドおよび 0.45 ml のトリ-n-ブチルアミンを加えて、混合物を無水条件下で室温で 2 から 3 時間反応させた。溶媒を減圧下で留去した後、50 ml のエーテルを加えて P<sup>1</sup>-(1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-イル)-P2-ジフェニルピロホスフェート (VII, B=シトシン) を沈澱させ、0℃で 30-60 分間保持した後、エーテルを除去した。沈澱を 2 ml のジオキサンに溶解させ、沈澱中の痕跡量の水を減圧下で留去した。P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 上で 663 mg (1 ミリモル) の *rac*-1-O-オクタデシル-2-O-パルミトグリセロ-3-ホスフェート (VIII, n=17, m=14, DL-混合物) を一晩乾燥した後、1 ml の無水ピリジンに溶解し、次いで上記のピロホスフェート (VII) を 0.5 ml のジオキサンに溶解したものと無水条件下で室温で一日間反応させた。反応後、溶媒を減圧で

(19)

3-ホスフェート (VIII, n=15, m=14, DL-混合物) を、300 ml の無水ピリジン中で 3.43 g (5 ミリモル) の *ara*-CMP モルホリド (VI, B=シトシン) と、無水条件下で室温で 5 日間反応させた。ピリジンを減圧で蒸発させ、残渣を実施例 1 に記載したように処理し、DE-52 (アセテート) セルロースカラム (2.5 × 5.0 cm, ジャケット付き, 5℃) に吸着させた後、0-0.15 M NH<sub>4</sub>Ac を含む線形勾配 CMW 溶媒 (各 1500 ml) で溶出し、目的化合物を含む画分をまとめて 30℃ 以下の温度で減圧で濃縮して、白色結晶を生成させた。こうして得た結晶をアンバーライト CG-50 (Na+) カラムで処理することにより、目的化合物を 30% の終了で得た。

- 1) 融点: 202-205℃ (分解)
- 2) NMR (90MHz): 溶媒 (CDCl<sub>3</sub>-CD<sub>3</sub>OD-D<sub>2</sub>O, 2:3:1): δ<sub>ppm</sub> 0.87 (6, t, 2CH<sub>3</sub>), 1.07-1.78 (54H, m, 27CH<sub>2</sub>), 2.35 (2, t, CH<sub>2</sub>-C=O), 3.27-4.35 (11, m, H<sub>2'</sub>, H<sub>3'</sub>, H<sub>4'</sub>, H<sub>5'</sub>, CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O),

(20)

留去し、こうして得た残渣に 25 ml のエーテルを加え、目的化合物を沈澱させた。こうして得た沈澱を 100 ml の CMW に溶解させ、DE-52 (アセテート) セルロースカラム (2.5 × 5.0 cm, ジャケット付き, 5℃) に吸着させた後、上述のように溶出させ、精製すると、30% の収率で目的化合物を得た。クロマトグラフィでの移動度および NMR データは、理論値と一致した。

### 実施例 3

1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジホスフェート-*rac*-1-O-ヘキサデシル-2-O-パルミトイルグリセロールまたは 1-β-D-アラビノフラフシルシトシン-5'-ジホスフェート-β-パルミトイル-DL-チミルアルコール (Ic, *ara*-CDP-L-PCA)

#### (1) 方法 A (反応工程図、方法 A)

基本的には、この化合物は実施例 1 に記載したのと同じ方法で調製される。ピリジンと共蒸発させた 4.19 g (6.6 ミリモル) の *rac*-1-O-ヘキサデシル-2-O-パルミトイルグリセロ-

(21)

5.15 (1, m, グリセロール CH), 5.92 (1, d, J=7Hz, シトシン H<sub>5</sub>), 6.14 (1, d, J=5Hz, H<sub>1'</sub>), 7.88 (1, d, J=7Hz, シトシン H<sub>6</sub>)

#### 3) 元素分析: C<sub>44</sub>H<sub>81</sub>N<sub>3</sub>O<sub>14</sub>P<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>·0.5 H<sub>2</sub>O

	C	H	N	P
計算値	53.21	8.43	4.23	6.24
実測値	53.69	9.27	3.92	5.72

#### (2) 方法 B (反応工程図、方法 C)

3.17 g (5 ミリモル) の *rac*-1-O-ヘキサデシル-2-パルミトイルグリセロ-3-ホスフェート (VIII, m=15, n=14, DL-混合物) と、1.7 ml (20 ミリモル) のモルホリンと、50 ml の *t*-ブチルアルコールとから成る還流混合物に、4.12 g (20 ミリモル) の N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) と 75 ml の *t*-ブチルアルコールの溶液を滴下して加え、還流条件下で 2 時間反応させた。反応混合物を室温で一晩攪拌した後、20 ml の水を加え、室温で 2 時間攪拌して、残りの DCC を分解した。こうして生成した白色結晶を濾過して除去し、濾液を減

(22)

圧で蒸発させて濃縮し、エーテルで抽出した。抽出物を減圧で蒸発させ、生成する残渣( $K$ ,  $n=15$ ,  $m=14$ ,  $DL$ -混合物)をトルエンと二回共蒸発させた後、 $2.13g$ ( $6.6$ ミリモル)の $ara$ -CMP( $III$ ,  $B$ =シトシン)と $4.67g$ ( $13.2$ ミリモル)のトリ- $n$ -オクチルアミンを加えて、混合物を再度ピリジンと3段階で共蒸発させて乾燥させた後、 $200ml$ のピリジンに溶解させ、無水条件で室温で7日間攪拌して反応させた。ピリジンを減圧で留去し、更に残っている痕跡量のピリジンを少量のトルエンと共蒸発させて完全に除去した。残渣を $30ml$ の酢酸と $300ml$ の $CMW$ 溶媒に溶解させ、室温で1時間攪拌した後、 $500ml$ のクロロホルムを加えた。有機層を分離して、減圧で濃縮し、残っている痕跡量の酢酸を $10ml$ のトルエンと3段階で共蒸発することによって完全に除去した。残渣を $100ml$ の $CMW$ 溶媒に溶解させ、 $DE-52$ (アセテート)セルロースカラム( $2.5 \times 50$   $cm$ ,  $5^\circ C$ のジャケット付き)に吸着させ、次いで実施例1に記載し

23

ピリジンを減圧で留去し、残渣を実施例1に記載したのと同様の方法で処理し、 $DE-52$ (アセテート)セルロースカラム( $2.5 \times 50$ ,  $5^\circ C$ )に吸着させ、 $0-0.15M$   $NH_4OAc$ を含む線形勾配 $CMW$ 溶媒で溶出した後、アンバーライト $CG-50$ ( $Na^+$ )カラムを通して、 $851$   $mg$ ( $29\%$ )のナトリウム塩を得た。

- 1)  $NMR(90MHz)$ : 溶媒( $CDCl_3-CD_3OD-D_2O$ ,  $2:3:1$ ):  $\delta_{ppm} 0.92(6, t, 2CH_3)$ ,  $1.07-1.78(54H, m, 27CH_2)$ ,  $2.35(2, t, CH_2-C=O)$ ,  $3.27-4.35(11, m, H_2', H_3', H_4', H_5', CH_2-O-CH_2; CH_2-O)$ ,  $5.07(1, m, グリセロール-CH)$ ,  $6.33(1, d, J=4.5H_2, H_1')$ ,  $8.17(1, s, アデニン H_2)$ ,  $8.40(1, s, アデニン H_8)$

#### 実験 1

$L 1210$  を腹腔内投与によるリンパ性白血病マウスに対する抗腫瘍活性:

$DBA/2J$  マウスに  $1 \times 10^6$  または  $1 \times 10^5$  個の  $L 1210$  リンパ性白血病細胞を腹腔内投与

た方法と同様に  $0-0.15M$   $NH_4OAc$  を含む線形勾配 $CMW$ 溶媒で溶出し、目的化合物を $30\%$ の収率で得た。クロマトグラフィーでの移動度および $NMR$ データは、理論値と一致した。

#### 実施例 4

$9-\beta-D$ -アラビノフラノシルアデニン- $5'$ -ジホスフェート- $rac-1-O$ -ヘキサデシル- $2-O$ -パルミトイルグリセロールまたは $9-\beta-D$ -アラビノフラノシルアデニン- $5'$ -ジホスフェート- $\beta$ -パルミトイル- $DL$ -チミルアルコール( $I_d, ara-ADP-DL-PCA$ )(反応工程図、方法A)

$1.90g$ ( $3$ ミリモル)の $rac-1-O$ -ヘキサデシル- $2-O$ -パルミトイルグリセロール- $3$ -ホスフェート( $VI$ ,  $n=15$ ,  $m=14$ ,  $DL$ -混合物)をピリジンと3段階で共蒸発することによって乾燥し、 $2.13g$ ( $3$ ミリモル)の $ara-AMP$ モルホリデート- $4$ -モルホリン- $N, N'$ -ジシクロヘキシル-カルボキサミジニウム塩( $VI$ ,  $B$ =アデニン)を $200ml$ のピリジンに溶解し、溶液を無水条件で室温で7日間攪拌した。

24

し、24時間後に医薬を $0.9\%$   $NaCl$ に溶解して、マウスに注射して、45日間に互り生存率を計測した。試験は米国国立癌研究所プロトコール(キヤンサー ケモセラピーリポーツ 3', 1-103', 1972)に準拠して行つた。処理計画は、 $qd1$ ,  $qd1, 5, 9$ および $qd1-5$ であつた。表1の最適投与量は、最大活性を生じる量である。広い投与量範囲に互つて試験を行つた。活性は、寿命の増加を比較することによって測定した。これは、試験および対照群マウスの平均寿命を比較することによって行つた。表1には、 $ara-C$ およびその抱合体 $ara-DCP-DL-PBA(Ib)$ および $ara-CDP-DL-PCA(Ic)$ の治療結果を示している。第一の部分は、 $ara-C$ 感受性 $L 1210$ リンパ性白血病マウスの結果を示す。無処理の対照マウスは、脾臓細胞の接種後7または8日で死亡した。 $ara-C$ を $400$   $mg$ ( $1644$  マイクロモル)/ $kg$ の最適単回投与で注射した場合に、寿命の増加( $\%$   $ILS$ )は $14\%$ であり、一日に一回 $200$   $mg$ ( $822$  マイクロモル)を5

25

26

日間注射した場合には、129% ILS になった。しかし、抱合体 ara-CDP-DL-PBA (Ib) および ara-CDP-DL-PCA (Ic) の 400 mg (395 および 407 マイクロモル) / kg の最適単回投与では、それぞれ 257% および 293% の優れた ILS を示した。最適投与量で 5 回注射した場合にも、それぞれ 229% および 264% の優れた ILS を生じた。ara-C およびその抱合体での単回投与の比較は、範囲外である。5 回投与計画では、抱合体は ara-C モル投与量の 1/8 または 1/10 の投与量で 2 倍の効果を示し、毒性はずつと少なかった。第二に、少量存在しているデオキシシチジンキナーゼによる ara-C 耐性 L 1210 リンパ性白血病マウスの治療処理の結果では、無処理の対照マウスは腫瘍細胞の接種後 8 から 11 日で死亡した。ara-C の単回投与処理では、ほとんど効果は見られず (ILS 6%)、5 日間処理では、65% ILS を生じた。これらの結果は ara-C が極少量だけデオキシシチジンキナーゼを含むことを示している。しかし

27

酵素によつて磷脂質と ara-CMP とに加水分解され、これによつて遊離した ara-CMP 連続的に ara-CTP に磷酸化される。従つて、ara-CMP が抱合体から放出されるので、ara-C の磷酸化に要するデオキシシチジンキナーゼは必要でない。

#### 利 点

上記試験に示されるように、これらの抱合体は、親医薬の ara-C よりも、少ない投与量でも、大きな活性を示し、これは逆に親医薬の治療指数の向上に後見することになる。更に、ara-C は半減期が短く、効果的にするには連続して投与する必要があつたが、抱合体は単回投与でもより大きく且つ優れた活性を有する。それ故、抱合体は持続放出医薬として使用することができる。特に抱合体が ara-C 耐性 L 1210 リンパ性白血病マウスに有効であるという事実は、それが癌細胞中で加水分解して ara-C と磷脂質を放出し、デオキシシチジンキナーゼ欠損耐性細胞に非常に有効であることを意味する。磷脂質は、1-O-

28

ながら、ara-C の抱合体、すなわち ara-CDP-DL-PBA (Ib) および ara-CDP-DL-PCA (Ic) は顕著な治療成果を生じ、痛に抵抗する大きな期待を抱けるものである。単回投与または一日に 80 mg/kg の量で 5 日間使用した最適投与量 400 mg/kg では、ILS は 259 ~ 356% となり、6 匹のマウスのうち 1 から 3 匹のマウスは 45 日以上生存し、完全に治療した。更に、第 1、5 および 9 日目に 167 mg/kg を投与する (3 回投与) 計画では、ara-CDP-PBA (Ib) は 290% 以上の ILS を示し、ara-CDP-PGA (Ic) は 374% 以上の ILS を示し、3 匹以上のマウス、特に ara-CDP-DL-PCA の場合には、6 匹のマウスのうち 6 匹のマウスが 45 日以上生存し、治療した。例えば、ara-C の 1/3 モルの投与量で 5 倍の効果をえた。抱合体がデオキシキナーゼ欠損 ara-C 耐性 L 1210 リンパ性白血病マウスに有効であるという事実は、抱合体がエンドサイトーシスまたは他の機構によつて細胞内に導入され、

29

アルキル-2-O-アシルグリセロール-3-ホスファートであり、生化学反応の後、1-O-アルキル-2-リソホスファチジルコリンまたは-エタノールアミンに変換され、これらの化合物自身は癌細胞に対して成長および転換抑制作用および免疫転形作用を有するので、それらは付加的および相乗効果を示すことが期待される。抱合体は、単に ara-C のプロドラッグではなく、更に新規な医薬と考えられる。更に、他の親油性プロドラッグと比較して、本抱合体は、超音波により水に透明に懸濁されるという利点を有する。白血病患者の ara-C を用いる治療では、この医薬に対する耐性の発生はデオキシシチジンキナーゼとシチジンドアミナーゼの細胞の相対的含量に関係することが文献に報告されていた [アンナルス オブ ニューヨーク アカデミー オブ サイエンス (Annals of New York Academy of Science) 255, 247 (1975)]。一方、ara-C 抱合体は、シチジンドアミナーゼに対して抵抗力を有し、アミノ基を加水分解しない。この抱合体は、

30

ara-C 耐性白血病患者の治療に大きな効果を有するものと考えられる。


30

表1 L 1210 リンパ性白血病細胞を腹腔内接種したマウスに対する抗癌活性<sup>a</sup>

化 合 物	治療計画 (qd)	最適投与量 <sup>b</sup> mg(/mole)/kg/日	生 存 日 数			
			範囲	メジアン(T/C)	%ILS <sup>c</sup>	45日間生存数
<u>L 1210/0<sup>d</sup> に対して</u>						
ara-C	1	400(1644)	8-10	8.0/7.0	14	0
	1-5	200(822)	7-18	16.0/7.0	129	0
ara-CDP-DL-PBA(Ib)	1	400(395)	15-29	25.0/7.0	257	0
	1-5	100(99)	18-32	23.0/7.0	229	1
ara-CDP-DL-PCA(Ic)	1	400(407)	20-33	27.5/7.0	293	0
	1-5	80(81)	21-30	25.5/7.0	264	0
<u>L 1210/ara-C<sup>e</sup> に対して</u>						
ara-C	1	300(1233)	9-10	9.5/9.0	6	0
	1-5	60(247)	14	14.0/9.0	65	0
ara-CDP-DL-PBA(Ib)	1	400(395)	25->45	36.0/9.0	300	2
	1-5	80(79)	30->45	>41.0/9.0	>356 <sup>f</sup>	3
	1,5,9	167(165)	24->45	>39.0/10.0	>290 <sup>f</sup>	3
ara-CDP-DL-PCA(Ic)	1	400(407)	11->45	>38.5/9.0	>328 <sup>f</sup>	3
	1-5	80(81)	26->45	30.5/8.5	259	1
	1,5,9	167(169)	-	>45.0/9.5	>374 <sup>f</sup>	6
ara-CMP and DL-PCA-PB	1	131 and 258 (各 407)	3-10	10.0/9.0	11	0
	1-5	26.2 and 51.4 (各 81)	4-15	14.0/9.0	56	0

32

- a: 6匹のDBA/2Jマウスの各群(平均体重、259、雄)は、第0日に $1 \times 10^6$  L 1210 / 0細胞または $1 \times 10^5$  L 1210 / ara-C細胞を腹腔内に接種された。
- b: 最大活性を生じる投与量。
- c: 寿命の増加率、 $(T/C-1) \times 100$ 。
- d: ara-C感受性 L 1210
- e: デオキシシチジン欠損による ara-C 耐性 L 1210。
- f: 45日間。
- g: ara-CMP (Ⅲ、B=シトシン) および rac-1-O-ヘキサデシル-2-O-パルミトイルグリセロール-3-ホスフェート (Ⅵ、n=15, m=14, DL-混合物)。

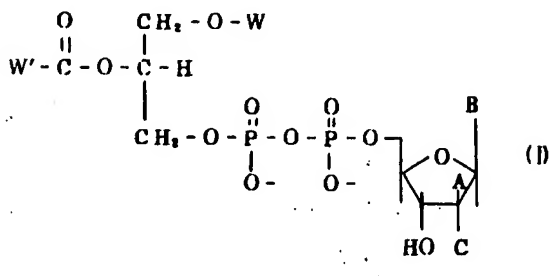
代理人 弁理士 湯 淺 恭 三   
(外4名)

(3)

(別紙)

## 1. 特許請求の範囲を次のように補正する。

## 【(1) 式



(式中、Bはアデニン、シトシン、5-フルオロウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプリンまたは7-デアザアデニンであり、

AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロキシ基であり、

Wは8-20個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基または2あるいは3-アルコキシアルキル基であり、

W'は7-19個の炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基である)を有するヌクレオシ

手続補正書

昭和61年3月7日

特許庁長官 宇賀道郎 殿

## 1. 事件の表示

昭和60年特許願第275853号

適

## 2. 発明の名称

新規ヌクレオシド誘導体およびその製造法


## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所

名称 保寧製薬株式会社

## 4. 代理人

住所 東京都千代田区大手町二丁目2番1号  
新大手町ビル206号室(電話 270-6641~6)  
氏名 (2770) 弁理士 湯 浅 恭 三 

## 5. 補正の対象

明細書の〔特許請求の範囲〕と〔発明の詳細な説明〕の欄

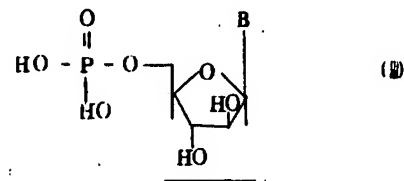
## 6. 補正の内容

別紙の通り

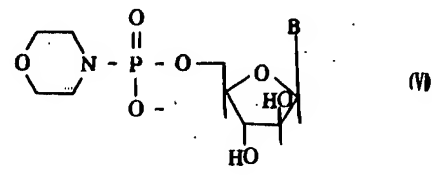


D抱合体および製薬上受容可能な毒性のない塩。

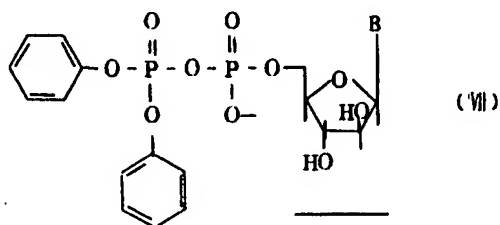
## (2) 式



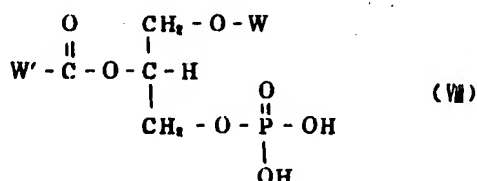
(式中、Bはアデニン、シトシン、5-フルオロウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプリンまたは7-デアザアデニンである)を有するヌクレオチドを縮合して、式



(式中、Bは上記定義の通りである)を有するモルホリデートまたは式



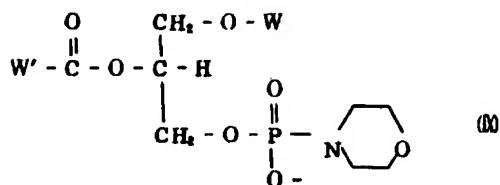
(式中、Bは上記定義の通りである)を有する  
P<sup>1</sup>-ヌクレオシド-5'-P<sup>2</sup>-ジフェニルピロホス  
フェートとし、次いで式



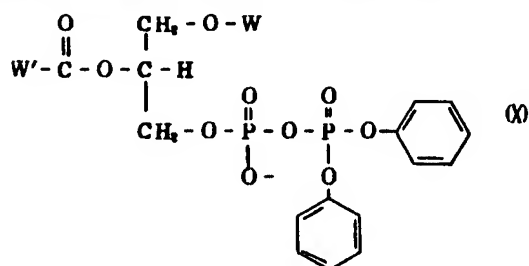
(式中、Wは8から20個の炭素原子を有する飽  
和または不飽和アルキル基または2或は3-アル  
コキシアルキル基であり、W'は7から19個の炭  
素原子を有する飽和または不飽和アルキル基で  
ある)を有する1-O-アルキル-2-O-アシル

(3)

コキシアルキル基であり、W'は7から19個の  
炭素原子を有する飽和または不飽和アルキル基で  
ある)を有する磷脂質を縮合して、式



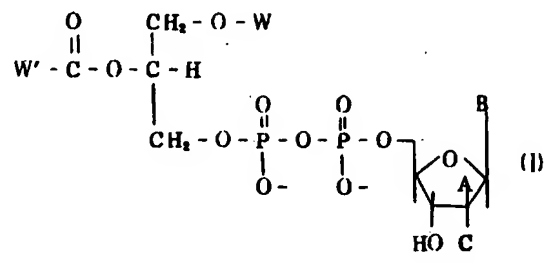
(式中、WおよびW'は上記定義の通りである)  
を有する磷脂質モルホリデートまたは式



(式中、WおよびW'は上記定義の通りである)  
を有するP<sup>1</sup>-グリセロ-5'-P<sup>2</sup>-ジフェニルピロ  
ホスフェートとし、次いでこれを式

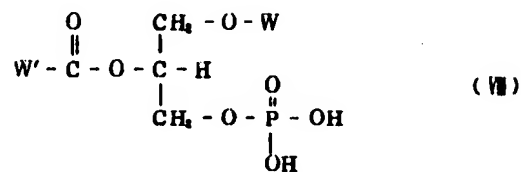
(5)

グリセロ-3-ホスフェートと反応させて、式



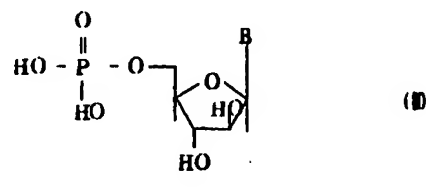
(式中、AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロ  
キシ基である)を有するヌクレオシド抱合体また  
はその塩を得ることを特徴とする。式(II)を有する  
ヌクレオシド抱合体の製造法。

(3) 式

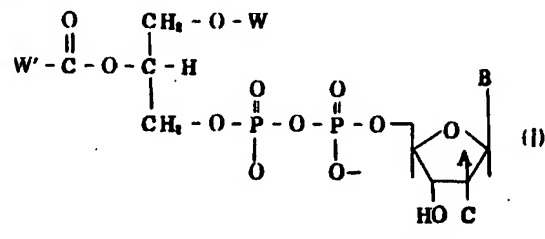


(式中、Wは8から20個の炭素原子を有する飽  
和または不飽和アルキル基または2或は3-アル

(4)



(式中、Bはアデニン シトシン、5-フルオロ  
ウラシル、5-アザシトシン、6-メルカプトプ  
リンまたは7-デアザアデニンである)を有する  
ヌクレオチドと反応させて、式



(式中、AおよびCはそれぞれ水素またはヒドロ  
キシ基である)を有するヌクレオシド抱合体また  
はその塩を得ることを特徴とする。式(II)を有する  
ヌクレオシド抱合体の製造法。

(4) 目的化合物が1-β-D-アラビノフラノ

(6)



シルシトシン-5'-ジホスフェート-1-O-オクタデシル-2-O-パルミトイル-sn-グリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

(5) 目的化合物が1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジホスフェート-rac-1-O-オクタデシル-2-O-パルミトイルグリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

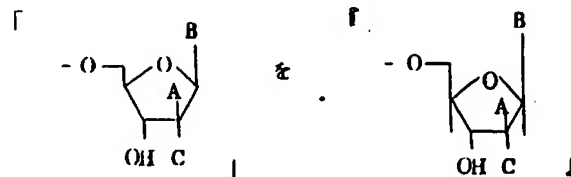
(6) 目的化合物が1-β-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ジホスフェート-rac-1-O-ヘキサデシル-2-O-パルミトイルグリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。

(7) 目的化合物が9-β-D-アラビノフラノシルアデニン-5'-ジホスフェート-rac-1-O-ヘキサデシル-2-O-パルミトイルグリセロールである特許請求の範囲第1項記載の化合物。』

2. 7ページ下から4行。及び14ページ(Ⅷ)。

(Ⅶ) 及び同ページ最右欄の4つの式(したがって14ページ中計7カ所該当)中の

(7)



と補正する。

以上

(8)

## 手続補正書

昭和61年6月10日

特許庁長官 宇賀道郎 殿

### 1. 事件の表示

昭和60年特許願第275853号



### 2. 発明の名称

新規ヌクレオシド誘導体およびその製造法

### 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所

名称 保寧製薬株式会社

以上

### 4. 代理人

住所 東京都千代田区大手町二丁目2番1番

新大手町ビル206号室(電話 270-6641~6)

氏名 (2770) 弁理士 藤田 恭三

### 5. 補正命令の日付

昭和61年5月20日(発送日)

### 6. 補正の対象

昭和61年3月7日付手続補正書の補正の内容の欄

### 7. 補正の内容

(1) 昭和61年3月7日付の手続補正書7ページ下より3行から末行までを次の通りに訂正する。

『2. 7ページ下から4行中の』

(2) 同手続補正書8ページ2行の下に次のように入加する。

『3. 14ページの反応工程図を別紙の通りに補正する。』

61.6.11

昭和61年6月11日

特許庁

